



TITLE:

# ヒト尿路性器悪性腫瘍のヌードマウスへの異種移植 - 移植成績と移植腫瘍の性状 -

AUTHOR(S):

本多, 靖明

---

CITATION:

本多, 靖明. ヒト尿路性器悪性腫瘍のヌードマウスへの異種移植 - 移植成績と移植腫瘍の性状 -. 泌尿器科紀要 1986, 32(10): 1411-1422

ISSUE DATE:

1986-10

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/118945>

RIGHT:

## ヒト尿路性器悪性腫瘍のヌードマウスへの異種移植

—移植成績と移植腫瘍の性状—

名古屋大学医学部泌尿器科学教室（主任：三矢英輔教授）

本 多 靖 明

STUDY ON HETEROTRANSPLANTATION OF HUMAN  
MALIGNANT UROGENITAL TUMORS IN NUDE MICE:  
RESULTS OF TRANSPLANTATION AND THE  
CHARACTERISTICS OF THE TRANSPLANTED TUMORS

Nobuaki HONDA

*From the Department of Urology, Nagoya University School of Medicine**(Director: Prof. H. Mitsuya)*

Between July, 1981 and June, 1984, 40 malignant urogenital neoplasms were heterotransplanted into nude mice to clarify the biological characteristics of malignancies and screen the effective anticancer drugs against them.

The primary tumor take was confirmed in 7 tumors (17.5%), including 4 of 14 renal cell carcinomas (28.6%) and 3 of 13 bladder cancers (23.1%). No primary take was recognized in renal pelvic, ureteral, prostatic and testicular cancers. Three of the 7 tumors (43%) with primary take (7.5% in total) have been serially transplanted for more than a year. These three established tumors were all renal cell carcinomas and were designated as AM-RC-1, AM-RC-6 or AM-RC-11. The take rate of tumor tissues obtained from primary and metastatic lesions was 18.2% (6/33) and 14.3% (1/7), respectively.

The duration from tumor inoculation to take was examined in seven transplantable tumors. The shortest was 12 days in renal cell carcinoma, the longest was 36 days in bladder cancer and the average was 24.4 days.

The correlation between the time from tumor extraction to inoculation and transplantability was investigated. The take rate was 29.4% within 3 hours, and 18.2% beyond 3 hours. The obvious effect of anti-asialo GM1 antibody on tumor take, which inhibits the natural killer activity of mice or rats selectively, was not demonstrated owing to the small number of cases. The histopathological features of seven original tumors with primary take were examined. All of the 4 renal cell carcinomas were shown to be histologically high grade and advanced. Two of the 3 bladder cancers were poorly differentiated. Therefore, the differentiation or growth rate of the tumor was suggested to be closely correlated with transplantability.

The three strains of renal cell carcinomas transplanted serially for a long-term period, AM-RC-1, AM-RC-6 and AM-RC-11 disclosed a constant growth after the 7th, 9th and 10th inoculation respectively. The renal cell carcinomas serially transplantable to nude mice maintained the basic histologic findings of the original tumor even after long-term serial transplantation.

**Key words:** Nude mouse, Xenotransplantation, Urogenital malignant tumors

## 緒 言

ヌードマウスは他の実験動物にはみられない特徴を有しており、異種動物腫瘍の移植が比較的容易なこともその一つである。ヌードマウスへのヒト悪性腫瘍の異種移植は1969年の Rygaard および Povlsen<sup>1)</sup> の報告以来、本邦でも多数の施設で行なわれ、その有用性ととも問題点も明らかにされてきた。ヌードマウス可移植ヒト悪性腫瘍株は継代を繰り返しても、形態学的および機能的特徴（抗原性、染色体、ホルモンあるいは酵素産生能など）のみならず抗癌剤に対する感受性の面でも、原腫瘍の性質をよく維持している事実より、癌研究において極めて重要な実験材料と言える。著者は泌尿生殖器系の悪性腫瘍、殊に腎細胞癌の生物学的性状の究明と感受性のある抗癌剤のスクリーニングおよびその臨床応用の目的で1981年6月からヒト尿路系悪性腫瘍のヌードマウスへの移植・継代を試みてきたので、現在までの移植成績および移植腫瘍の性状について報告する。

## 実験材料ならびに実験方法

### 1) ヌードマウスと飼育方法

実験に用いたヌードマウスは静岡実験動物研究所にて specific pathogen free (以下 SPF) 環境下にて飼育された BALB/C-nu/nu、生後6～8週齢の雄あるいは雌で、体重20～23gであった。動物の飼育には、飼育室内に飼育棚 (laminar flow clean rack) を設置し、その中にポリカーボネイト製ケージを収容し、感染予防の目的でケージをエチレンオキシドガス滅菌したフィルターキャップで覆った。室温は  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$ 、飼育室の新鮮空気換気回数は1時間23回であった。各ケージには最大4匹までを入れた。飼料は市販の固型飼料 MF (オリエンタル酵母社製) を用い、飲料水は水道水を給水瓶に入れてオートクレーブにて滅菌 ( $125^\circ\text{C}$  にて30分間の高圧蒸気滅菌) したものを自由摂取とした。床敷は電気かんな屑をオートクレーブにて高圧滅菌して使用した。ケージ、蓋は自動洗浄器にて  $80^\circ\text{C}$  で滅菌し、給水瓶は塩素系消毒薬 (ピューラック) もしくは逆性石けん液 (オスバン液) にて滅菌した。なお飼料、飲料水、床敷、ケージおよび蓋は週2～3回定期的に交換を行なった。実験者は滅菌ガウン、マスク、帽子、手術用の滅菌ゴム手袋を着用した。

### 2) 移植材料と移植方法

移植に用いた腫瘍材料は手術により摘出した腫瘍塊あるいは生検により採取した腫瘍組織より得た。腫瘍

は採取後、極力無菌的に扱い、CBPC、SBPC あるいは CET を  $200 \mu\text{g/ml}$  含む培養液 Eagle MEM もしくは RPM I-1640 液に浸し、冷蔵庫内 ( $4^\circ\text{C}$ ) に保存し、1～5時間後に移植した。実験台に滅菌済みの disposable drape を敷き、腫瘍より壊死部および出血部を可能な限り除去した後、メスおよび眼科用ハサミで腫瘍組織を2～3mm角に細切し、その腫瘍片を東北大式シルバーマン針 (大、外套管外径2.5mm) もしくは眼科用小摂子を用いてヌードマウスの腹部または背部皮下に移植した。なお皮膚切開部には povidone iodine gel を塗布した。

### 3) 抗 asialo G M1 抗体の投与

ヌードマウスには正常マウスよりも高い natural killer (以下 NK) 活性が認められ、重要な抗腫瘍因子と考えられているが、このヌードマウスの有する NK 活性がヒト尿路系悪性腫瘍のヌードマウスへの生着率に関与しているか否かを検討するために、マウスおよびラットの NK 活性を選択的に抑制する抗 asialo G M1 抗体 (和光純薬工業株式会社) を玉置らの方法<sup>2)</sup> を参考に、腫瘍移植24時間前、移植後2日目、5日目の3回各々  $0.15 \text{ ml}$  ずつを腹腔内に投与し、抗 asialo G M1 抗体投与群 (10例) と非投与群 (30例) の間で生着率を比較検討した。

### 4) 腫瘍の計測と継代移植

腫瘍移植後は週2～3回 sliding caliper を用いて長径 (L) および短径 (W) を mm 単位で測定し、腫瘍を球状もしくはラグビーボール状と仮定し、その体積を  $1/2 (L \times W^2)$  で表わした。また継代移植の可能な株については、各計測時の腫瘍体積 (平均値  $\pm$  標準偏差) を求め腫瘍増殖曲線を作製した。ヌードマウスへの移植腫瘍の生着判定は、移植片が移植時より大きくなり、かつその後も増大傾向を示すものを移植陽性とした。なお腫瘍も徐々に増大することがあるが、両者の識別は腫瘍の色調および硬度により可能であった。継代移植は腫瘍の長径が10mm以上に達した時点で、壊死部および出血部を避けて、初代移植と同様の方法で行なった。

### 5) 原腫瘍および移植・継代腫瘍の組織像の検討

腫瘍の移植・継代に際しては、移植腫瘍片に隣接せる部分を含めてできる限り多数の組織を10%ホルマリン液で固定し、hematoxylin-eosine (以下 H-E) 染色を施行後、光顕的観察を行なった。

## 実 験 結 果

1) ヒト尿路系悪性腫瘍のヌードマウスへの移植成績

1981年6月より1984年5月までに、著者は6種40例のヒト尿路性器悪性腫瘍を移植し、Table 1 および2に示すとき成績を得た。全体の生着率は7例(17.5%)で、そのうち3例(全体の7.5%)が継代可能であった。腫瘍別にみると、腎腫瘍14例(全例腎細胞癌)中初代移植成功例は4例(28.6%)であり、ヌードマウス19匹中14匹(73.7%)に生着が認められた。また初代移植成功例4例中3例は継代移植が可能であり、いずれも長期継代に成功している。生着例4例を病理組織学的に検討したところ、全例とも核の異型性が高度でかつ転移を有する進行癌で、そのうち3例は腫瘍の大きさが径5cmを越え、被膜外への浸潤が認められたことから、腎細胞癌の場合、腫瘍細胞の悪性度および増殖能などが可移植性に関与していると考えられた。

腎盂・尿管腫瘍は6例(全例移行上皮癌)に移植を試みたが、生着は認められなかった。

膀胱腫瘍の初代移植成功率は13例中3例(23.1%)で、ヌードマウス31匹中13匹(42%)に生着をみたが、いずれも2代目以降に腫瘍が自然消滅したため継代移植は不可能であった。この3例を病理組織学的に検討すると、各々移行上皮癌(grade 3)、未分化型腺癌、扁平上皮癌と移行上皮癌の混在型(grade 1~2)であり、後に患者はいずれも癌死している。一方low grade でかつ表在性腫瘍に生着例がなかったことを考え合わせると、膀胱腫瘍においても、腫瘍の分化度が低く、malignant potentiality の高いものが生着し易いと考えられた。

前立腺腫瘍は低分化型腺癌2例を雄性ヌードマウスに移植したが、生着は認められなかった。

睪丸腫瘍は胚細胞腫瘍4例(精上皮腫2例、胎児性癌2例)悪性精索間質腫瘍1例に移植を試みたが、初代移植成功例はなかった。

腫瘍組織の採取部位を原発巣と転移巣に分けて生着率を検討した結果、前者では33例中6例(18.2%)、後者では7例中1例(14.3%)で、両者間に明らかな差は認められなかった(Table 3-A)。

組織採取後移植までの時間と生着率との関係についてみると(Table 3-B)、全腫瘍の移植までの時間は1~5時間で、移植に要した時間を3時間未満と3時間以上に分けて検討したところ、前者は29.4%、後者は18.2%に生着が認められた。また初代移植成功例の移植までの平均時間は2.9時間であり、組織採取後可及的短時間内の移植が望ましいと考えられた。

初代移植成功例7例(腎細胞癌4例、膀胱腫瘍3例)について、腫瘍移植より生着までの期間をみると(Table 3-C)、最短は腎細胞癌の12日、最長は膀胱腫瘍の36日、平均24.4日であった。

抗 asialo G M1 抗体の生着率におよぼす影響について検討した(Table 3-D)。抗 asialo G M1 抗体投与群では10例中生着例は1例(10%)であったのに対して、非投与群では30例中6例(20%)に生着が認められたが、投与群の例数が少ないため、現在のところ抗 asialo G M1 抗体の有効性を論ずるには至っていない。今後更に検討の必要があると考えられた。

2) 移植・継代腫瘍の性状および組織像(Table 4)

Table 1. Transplantation of human malignant urogenital tumors into nude mice (1981.6~1984.5)

Original tumor	Number of transplanted tumors	Number of tumors with primary take (%)	Number of tumors serially transplanted (%)
Renal cancer	14	4 (28.6)	3 AM-RC-1 (33th passage) (21.4) AM-RC-6 (27th passage) AM-RC-11 (24th passage)
Renal pelvic cancer	2	0	0
Ureteral cancer	4	0	0
Bladder cancer	13	3 (23.1)	0
Prostatic cancer	2	0	0
Testicular cancer	5	0	0
Total	40	7 (17.5)	3 (7.5)

Table 2. Characteristics of tumors with primary take

Tumor	Name Age Sex	Primary lesion	Site of tumor extracted	Histological features	Time before inoculation	Days before take(d)	Take rate (mice)	Serial transplantation	Prog- nosis
AM-RC-1	K.Y. 70 F	Kidney	Metastatic (Liver R.P.L.N.)	RCC, Granular cell, tubular G 3	2 h	34	5/5	33 th	dead
AM-RC-6	F.T. 67 F	Kidney	Primary	RCC, Mixed alveolar G 3	4 h	26	3/5	27 th	dead
AM-RC-7	K.I. 40 M	Kidney	Primary	RCC, Clear cell alveolar G 3	3 h	12	1/3	passage im- possible owing to death of mouse	dead
AM-RC-11	I.A. 41 M	Kidney	Primary	RCC, Mixed & Spindle cell, alveolar & solid, G3	3 h	13	5/6	24 th	dead
AM-BC-3	M.H. 80 F	Bladder	Primary	TCC G 3	2 h	28	3/5	disappearance after II nd passage	dead
AM-BC-6	E.I. 63 M	Bladder	Primary	SCC > TCC G 1 = 2	2.5 h	36	2/10	disappearance after II nd passage	dead
AM-BC-7	K.S. 39 F	Bladder	Primary	A C Undifferentiated	4~5h	22	3/10	disappearance after II nd passage	dead

R.P.L.N. : retroperitoneal lymph node

Table 3

## A. Take rate according to site of tumor extraction

Origin	Number of transplanted tumors	Number of primary take (%)
From primary	33	6 (18.2)
From metastatic	7	1 (14.3)
Total	40	7 (17.5)

## B. Correlation between transplantability and the time before inoculation

Time before inoculation	Primary take rate
< 3 hours	29.4 %
3 to 5 hours	18.2 %

## C. The day from inoculation to primary take

Tumors	Days
Renal cancers	
AM-RC-1	34
AM-RC-6	26
AM-RC-7	12
AM-RC-11	13
Average	21.3
Bladder cancers	
AM-BC-3	28
AM-BC-6	36
AM-BC-7	22
Average	28.7
Total average	24.4

## D. Effect of anti-asialo GM1 antibody on tumor take

	take rate (%)
Anti-asialo GM1 Ab	1/10 (10)
No anti-asialo GM1 Ab	6/30 (20)

Table 4. Characteristics and histopathological features of serially transplantable renal cell carcinomas

Name of tumor	Original tumor				Serially transplanted tumor				
	Histology		Lag phase		Histology			Number of passage (1984.5)	
	Cell type	Growth pattern			Cell type	Growth pattern	Grade		TD (days)
AM-RC-1	Granular cell	Tubular	3	34	Granular cell	Tubular & Solid	3	5.38±0.10	33th
AM-RC-6	Mixed	Alveolar	3	26	Mixed	Alveolar	3	5.65±0.37	27th
AM-RC-11	Mixed & Spindle cell	Alveolar & Solid	3	13	Mixed	Alveolar	3	3.75±0.15	24th

TD: Tumor volume doubling time

初代移植に成功した7例の尿路性器悪性腫瘍のうち、1年以上の長期間にわたって継代移植が可能なのは、腎細胞癌の3株（以下 AM-RC-1, AM-RC-6 AM-RC-11 と命名）であり、この3株の特徴について述べる。

#### ①移植・継代腫瘍の性状

a) AM-RC-1: 原腫瘍は70歳の女性で、腎腫瘍の臨床診断のもとに開腹手術を施行したが、広汎な転移・浸潤のため根治手術は不可能で、肝および後腹膜リンパ節転移巣の試験切除のみを行なった。AM-RC-1はこの転移巣よりのもので、ヌードマウスに移植後34日目に生着を確認した。Fig. 1はAM-RC-1の腫瘍増殖曲線であり、継代7代目以降にはほぼ安定した増殖を示している。本腫瘍の対数増殖期間中の体積倍加時間（以下  $T_D$ ）は $5.38 \pm 0.10$ 日であり、移植後5週過ぎより中心壊死の傾向が強くみられた。

b) AM-RC-6: 原腫瘍は67歳の女性から腎摘出術により得られたもので、手術時腎門部、傍大動脈、下大静脈周囲のリンパ節に多数の転移が認められた。AM-RC-6は原発巣由来のもので、ヌードマウスに移植後26日目に生着が確認された。継代8代目までは不安定な増殖を示したが、9代目以降はFig. 2に示すごとく、ほぼ安定した増殖を示している。本腫瘍の対数増殖期間中の  $T_D$  は $5.65 \pm 0.37$ 日で、移植後4週を過ぎる頃より壊死傾向が強くみられるようになった。

c) AM-RC-11: 原腫瘍は41歳の男性より得られたもので、手術時既に脳、肺および皮膚に転移が認められた。原発巣由来の腫瘍組織をヌードマウスに移植後

12日目に生着をみた。AM-RC-11は継代初期には腫瘍増殖速度が極めて早かったが、Fig. 3のごとく継代10代目以降はほぼ安定した増殖を示した。本腫瘍の対数増殖期間中の  $T_D$  は $3.75 \pm 0.15$ 日であり、移植後4週目頃より壊死傾向が認められた。

#### ②原腫瘍および移植・継代腫瘍の組織像

a) AM-RC-1: Fig. 4は原腫瘍のH-E染色標本である。腫瘍細胞は一部 trabecular pattern を示すが、主として小管状腺腔を形成して増殖し、tubular adenocarcinoma の像を呈している。腫瘍細胞は異型性が強く、ところどころに壊死部分が認められ、間質は比較的豊富な結合織より成っている。Fig. 5は継代7代目の腫瘍の組織像である。腫瘍細胞は原腫瘍に比してやや未分化傾向が強く、充実性もしくは小腺腔を成して増殖しているが、tubular adenocarcinoma の性格を維持している。個々の腫瘍細胞は pleomorphism に富み、mitosis も多数認められ、高度異型性を示す。間質は原腫瘍に比べてやや乏しいが、全体的にみて継代7代目以降もほぼ同様な組織像を示すことから、本腫瘍は継代を重ねても、原腫瘍の基本的な組織学的特徴を維持していることが明らかであった。

b) AM-RC-6 原腫瘍の細胞型は mixed subtype である。Fig. 6は clear cell subtype の部分で、類円形の腫瘍細胞が尿細管様の構造を示している。細胞質は広く、明るく泡沫状を呈し、核は比較的小型で濃染し、mitosis も多数認められ核異型が高度である。Fig. 7は granular cell subtype の部分を示している。細胞質は軽度の好酸性を呈し顆粒状であり、核の

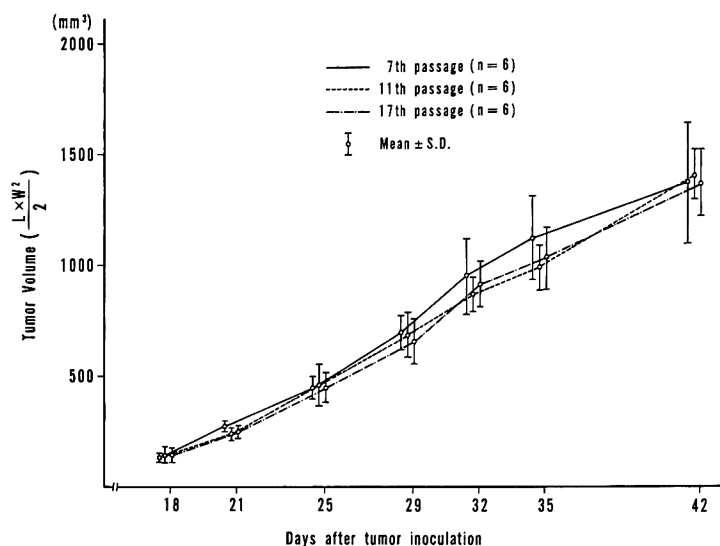


Fig. 1. Growth curve of AM-RC-1

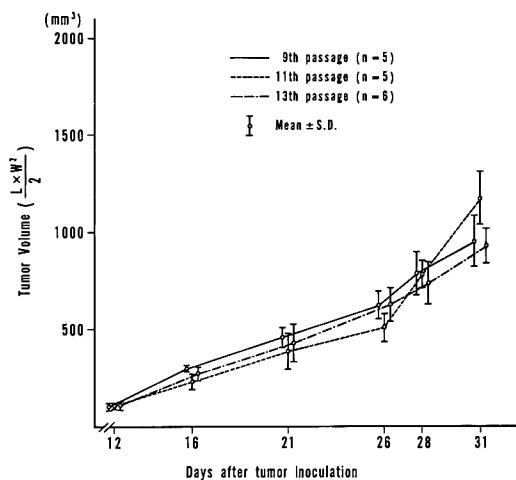


Fig. 2. Growth curve of AM-RC-6

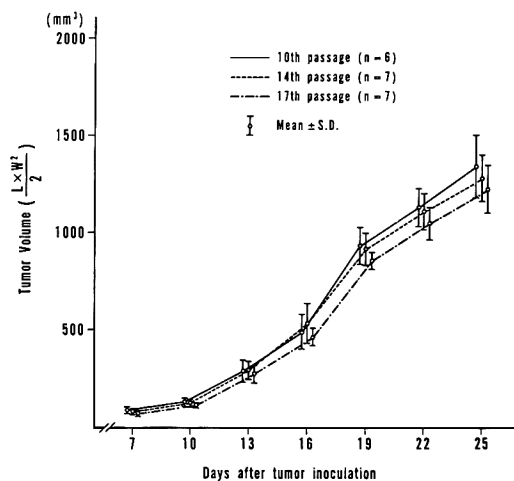
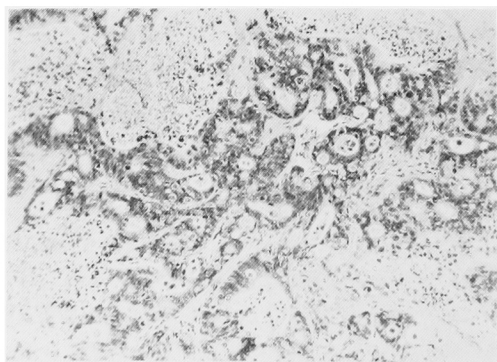
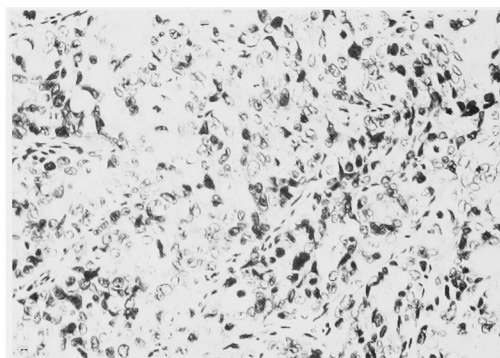


Fig. 3. Growth curve of AM-RC-11

Fig. 4. AM-RC-1 の原腫瘍 (H-E 染色,  $\times 50$ )Fig. 5. AM-RC-1 の継代7代目の腫瘍 (H-E 染色,  $\times 100$ )

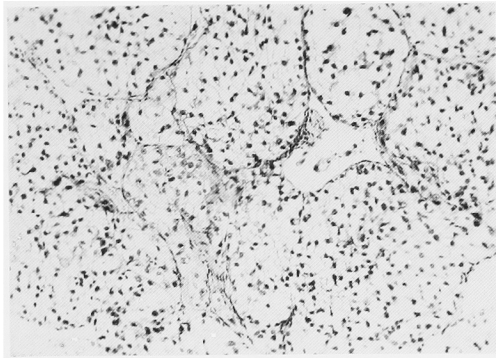


Fig. 6. AM-RC-6 の原腫瘍, clear cell subtype の部分 (H-E 染色,  $\times 50$ )

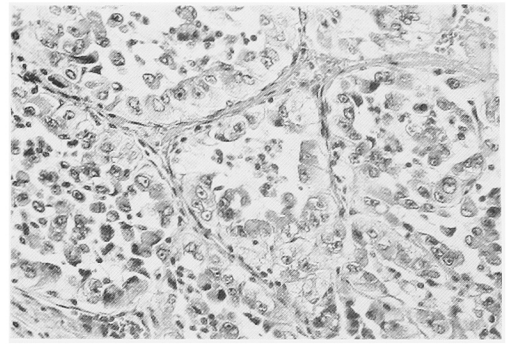


Fig. 7. AM-RC-6 の原腫瘍, granular cell subtype の部分 (H-E 染色,  $\times 100$ )

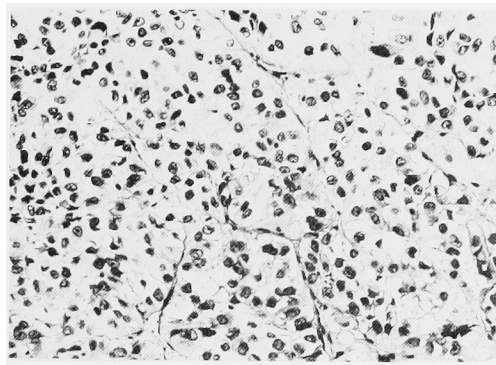


Fig. 8. AM-RC-6 の継代9代目の腫瘍 (H-E 染色,  $\times 100$ )

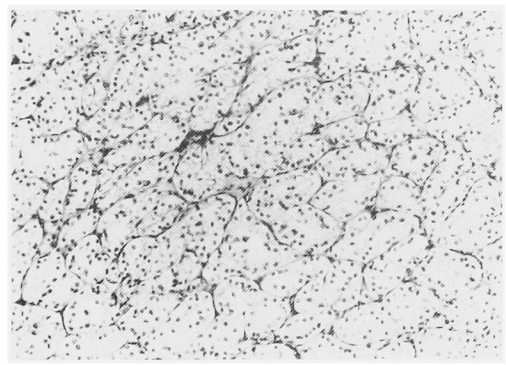


Fig. 9. AM-RC-11 の原腫瘍, clear cell subtype の部分 (H-E 染色,  $\times 50$ )

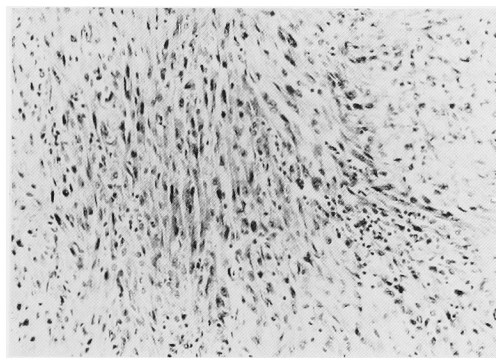


Fig. 10. AM-RC-11 の原腫瘍, spindle cell subtype の部分 (H-E 染色,  $\times 50$ )

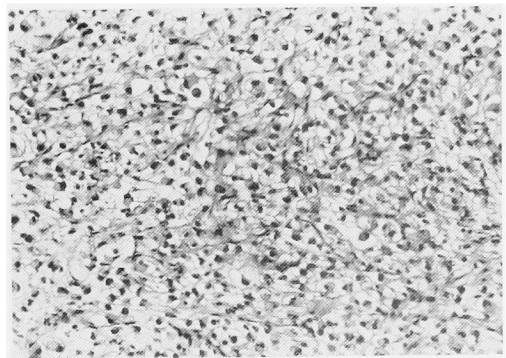


Fig. 11. AM-RC-11 の継代10代目の腫瘍 (H-E 染色,  $\times 50$ )

異型性は同様に強い。clear cell および granular cell とともに主として alveolar pattern を呈して増殖し、間質は乏しく大部分が毛細血管よりなる。Fig. 8 は継代9代目の腫瘍の組織像である。clear cell subtype と granular cell subtype の部分が混在して認められ、腫瘍細胞は alveolar pattern を示して増殖

している。clear cell は細胞質が広く、明るく、核は大小不同で染色性も多様である。核小体は円形で比較的大型のものが1個存在し、mitosis もところどころに散在して認められる。間質は乏しくほとんど毛細血管のみから成っている。これらの所見から、本腫瘍は継代を重ねても、基本的には原腫瘍の形態学的特徴を



よく維持していた。

c) AM-RC-11 原腫瘍の細胞型は mixed subtype および spindle cell type である。Fig. 9 は clear cell subtype の部分で、腫瘍細胞は大部分 alveolar pattern を呈して増殖し、tubular pattern も一部に認められる。間質は乏しく、主として毛細血管よりなる。個々の腫瘍細胞の核は中等度の異型性を示す。Fig. 10 は spindle cell type の部分である。異型性の強い紡錘形の腫瘍細胞が solid pattern を成して増殖している。Fig. 11 は継代 10 代目の腫瘍の H-E 染色標本である。腫瘍細胞は mixed subtype よりなるが、clear cell 優位である。全体的には原腫瘍に比べてやや medullary な部分が増すが、大部分は alveolar pattern を示し、毛細血管により囲繞されている。spindle cell type の部分が認められないことを除いては、原腫瘍と継代腫瘍の組織学的特徴は極めてよく類似していた。

## 考 察

1) ヒト尿路性器悪性腫瘍のヌードマウスへの移植成績について

ヌードマウスは胸腺を欠くために T 細胞機能が欠損し、同種移植のみならず異種移植も可能である。1969 年 Rygaard と Povlsen<sup>1)</sup> が人結腸癌のヌードマウスへの異種移植に成功して以来、わが国においても、多くの施設でヒト悪性腫瘍のヌードマウスへの移植が試みられてきたが、移植成功率は必ずしも高くない。下里<sup>2)</sup>によると増殖の良い固型悪性腫瘍の初代移植成功率は 30~40% であり、永井ら<sup>3)</sup>はヌードマウスに移植したヒト腫瘍 91 例中 25 例 (27.5%) が初代移植陽性で、このうち 11 例が継代維持されているに過ぎないと述べている。また玉置ら<sup>4)</sup>は悪性腫瘍、特に癌では 35.7% の移植成功率であったと報告しているが、悪性リンパ腫、白血病などの造血器腫瘍および乳癌、前立腺癌の移植成績は一般に極めて不良であり、腫瘍の種類により移植率に大きな違いが認められる。泌尿器科領域では、由井<sup>5)</sup>が各種の泌尿生殖器系悪性腫瘍をヌードマウスに移植し、初代移植成功率は 41.4% (腎細胞癌 66%, 腎盂腫瘍 0%, 尿管腫瘍 50%, 膀胱腫瘍 80%, 前立腺腫瘍 0%, 睪丸腫瘍 11%) で、そのうち継代成功率は 58.3% であったと報告している。勝岡<sup>7)</sup>は 12 例の腎細胞癌をヌードマウスに移植し 6 例 (50%) に生着を認めたが、そのうち継代可能であったものは 4 例で、他の 2 例は 5 代目以降に消失したと述べており、大西ら<sup>8)</sup>も腎細胞癌 13 例中移植継代成功率は 3 例 (23.1%) であったと報告している。また岡田ら<sup>9)</sup>は

各種尿路性器悪性腫瘍を移植し、移植成功率 56% (82 腫瘍中 46 腫瘍が生着)、35 腫瘍 (全体の 43%, 生着した腫瘍の 76%) が継代可能で、他の報告者の移植成績より良好であったと述べている。腫瘍別に検討したところ、腎腫瘍 53% (神経芽細胞腫 0%, ウイルス腫瘍 100%, 腎細胞癌 50%) 尿路上皮腫瘍 69%, 睪丸腫瘍 57% (精上皮腫 27%, 非精上皮腫 72%), 前立腺腫瘍 43% の初代移植成功率であった。著者の実験では全体の生着率は 17.5%, そのうち継代成功率は 42.9% (全体の 7.5%) で、由井<sup>5)</sup>、岡田ら<sup>9)</sup>の移植成績より不良であり、塚本ら<sup>10)</sup>の成績にはほぼ匹敵した。生着率を疾患別にみると、腎腫瘍 (全例が腎細胞癌) 28.6%, 膀胱腫瘍 23.1% であるのに対して、腎盂腫瘍、尿管腫瘍、前立腺腫瘍、睪丸腫瘍はいずれも 0% であった。由井<sup>5)</sup>も腎細胞癌、膀胱癌の移植成績は比較的良好であるが、前立腺癌、睪丸腫瘍のそれは不良であったと述べている。しかし岡田ら<sup>9)</sup>、塚本ら<sup>10)</sup>によると睪丸腫瘍の生着率も比較的良好 (各々 57%, 43.8%) で、著者および由井の成績 (各々 0%, 11%) に比して明らかに優れていた。その理由として、由井<sup>5)</sup>は病理組織学的悪性度の比較的低い腫瘍例を多く移植したことが大きな要因であると述べており、岡田ら<sup>9)</sup>も腫瘍細胞の悪性度、即ち増殖能が移植の可否を左右する重要な因子であると推測している。著者が移植した睪丸腫瘍 5 例は、いずれも組織学的悪性度は低く、移植に適さなかったと考えられるが、例数が少ないため十分検討できなかった。前立腺癌は乳癌とともに固型腫瘍のなかで最も移植が困難とされている。岡田ら<sup>9)</sup>の成績 (初代移植率 43%, ただし長期継代成功率 0%) を除いて、初代移植率は一般に極めて不良で、なかんずく継代維持されている株はごく少数である。その理由の一つとして、岡田ら<sup>9)</sup>は新鮮な組織を充分に得る機会の乏しいことをあげているが、前立腺癌は一般に細胞周期が長く、結合繊が比較的多いため、もともと移植に適さない腫瘍であろうと述べている。さらに Okada ら<sup>11)</sup>は移植片の継代維持にアンドロゲン刺激が必要である事実を明らかにしており、前立腺癌のヌードマウスへの移植・継代に際しては、hormonal な因子のおよぼす影響をも考慮する必要がある。著者は針生検もしくは経尿道的な前立腺切除術によって得られた組織片を移植したが、前者の場合採取される組織が小さいため、十分量の腫瘍を移植しえたかどうか疑問があり、また後者の場合移植片を無菌的に扱うことが困難であることから、前立腺癌の移植に際しては、前立腺全摘出術により得られた組織が適切と考えられた。

胸腺の欠損によるT細胞機能不全状態を考えると、ヒト癌のヌードマウスへの移植成功率は意外に低い。この理由として須田ら<sup>12)</sup>は腫瘍側、宿主側、移植方法の3因子と、その相互間の影響をあげている。腫瘍側の因子としては腫瘍の分化度、腫瘍細胞の増殖の速さ、移植された腫瘍細胞の数、腫瘍血管新生能の関与が考えられる。玉置ら<sup>5)</sup>は低分化で発育の速いものほど移植され易いと言い、永井ら<sup>4)</sup>も増殖の緩徐な悪性腫瘍の生着率は低いと述べている。腎細胞癌についても、勝岡<sup>7)</sup>の報告では、生着した6例中5例は臨床的に進行癌であり、また大西ら<sup>8)</sup>はヌードマウスに移植継代の可能な腎細胞癌3症例がすべて病理組織学的にhigh gradeであり、急速に死の転帰をとったことから、腫瘍の悪性度が可移植性に重要な影響をおよぼすことを指摘している。著者も腫瘍の分化度と初代移植成功率について検討を行なった。膀胱腫瘍では生着例3例のうち2例が低分化型腫瘍であり、腎細胞癌でも生着例4例の腫瘍細胞はいずれも異型性が強く、腎癌取扱規程<sup>13)</sup>のgrade 3に相当したことから、腫瘍の分化度あるいは組織学的異型度と生着率の間に密接な関係が存在することが示唆された。しかし一方で岡田ら<sup>9)</sup>は腎癌の移植の可否は組織型や細胞の悪性度に左右されることが少ないと述べており、須田ら<sup>12)</sup>の食道癌の移植でも腫瘍の分化度と継代移植率の間に関連性は認められず、この問題は今後、更に検討する必要がある。また著者が長期継代に成功している腎細胞癌3株(AM-RC-1, AM-RC-6, AM-RC-11)の腫瘍体積倍加時間は、それぞれ $5.38 \pm 0.10$ 日、 $5.65 \pm 0.37$ 日、 $3.75 \pm 0.15$ 日でいずれもかなり速い増殖を示し、しかもものの3症例は腫瘍径が5 cmを越え、被膜外に浸潤を認め、転移を有する進行癌で術後数カ月以内に死亡したことにより、腫瘍細胞の増殖能も可移植性に影響をおよぼしている因子と考えられた。宿主側の因子としてはT細胞機能以外の免疫反応(NK活性、マクロファージ活性など)の関与が指摘されている。河村ら<sup>14)</sup>はヌードマウスの有するマクロファージの抗腫瘍活性に着目して、ヒト消化器癌の移植において抗マクロファージ血清投与群と無処置群の間で生着率を比較したところ、前者の方が高い生着率を示したことにより、マクロファージの抗腫瘍性が生着率に影響をおよぼしている可能性を示唆した。一方ヌードマウスには高いNK活性が認められかつT細胞機能に依存しないため、ヌードマウスの重要な抗腫瘍因子の一つと考えられている。Kasaiら<sup>15)</sup>は脳組織より分離したgangliosideの一種であるasialo GM1がNK細胞の表面抗原の一部であり、それに対する抗体(抗

asialo GM1抗体)は選択的にNK細胞を傷害することを明らかにした。抗asialo GM1抗体をヌードマウスに投与すると、極めて少量でかなり長期間NK活性を抑制することができるといわれており<sup>16)</sup>。玉置ら<sup>2)</sup>は抗asialo GM1抗体0.15 mlを4日目ごとにヌードマウスの静脈内に投与してNK活性を抑制し、注射開始日に同系、同種および異種腫瘍の一定量を皮下に移植して腫瘍形成の有無と腫瘍発育の状態を観察したところ、いずれも対照群に比して移植成功率、腫瘍の発育促進効果は著明であったと述べている。著者は玉置ら<sup>2)</sup>の方法に準じて抗asialo GM1抗体を腫瘍移植24時間前、移植後2日目、5日目の計3回腹腔内に投与し、生着率におよぼす影響を検討したが、例数が少ないため(10例)現在のところその効果を十分評価するに至っていない。

一方移植方法の良否も生着率に関与していると言われる。生体より採取した腫瘍組織は極力無菌状態を保ち、できるだけ短時間のうちに移植するのが望ましいと思われる。勝岡<sup>7)</sup>は腎細胞癌12例中6例(50%)に生着を認めたが、組織摘出より植込みまでの時間と可移植性との間に密接な関係はみられなかったと述べており、下里<sup>3)</sup>も20時間後に移植して生着した例もあると報告しているが、鈴木ら<sup>17)</sup>はヒト胃癌組織をヌードマウスに移植し、19.3%の移植率を認め、移植に要した時間を2～3時間以内と4～5時間以内に分けて検討したところ、前者は15例中5例(33.3%)、後者は25例中5例(20%)で、速やかな移植が望ましいと述べている。また著者の実験でも腫瘍摘出より移植までの時間を3時間以内と3～5時間に分けて生着率を検討した結果、各々29.4%、18.2%であり、可及的早期の移植が望ましいと考えられた。以上に述べたごとく、移植率の向上を図るためこれまで種々の努力が試みられてきたが、乳癌、前立腺癌、造血器腫瘍などの移植は現在なお困難であり、かかる腫瘍の難移植性の成因を明らかにすることも今後の課題の一つといえる。

## 2) ヒト尿路性器悪性腫瘍のヌードマウスへの移植継代前後の組織像

ヌードマウス可移植ヒト癌株は継代を重ねても、原腫瘍の形態学および機能的特徴を極めてよく維持していることは既に多くの研究者<sup>18-20)</sup>によって明らかにされ、泌尿器科領域でも同様な報告がいくつかみられる。ヌードマウスに移植されたヒト腎細胞癌の原腫瘍と継代腫瘍の組織像の比較検討は、勝岡<sup>7)</sup>によりなされており、継代可能な4株は原腫瘍に極めて類似した組織学的所見を示したと述べている。由井<sup>6)</sup>はヌー

ドマウス可移植腎細胞癌2株の移植継代前後の組織像を比較し、両株とも継代腫瘍は起源腫瘍に比してやや間質の増加を認めるが、基本的な組織学的特徴はよく保れていると述べており、また継代維持されている膀胱癌2株の組織形態も基本的には変わらなかったという。大西ら<sup>8)</sup>もヌードマウスに移植された腎細胞癌3株の原腫瘍と継代腫瘍の組織像を比較検討したが、継代に伴う病理組織学的変化はほとんどみられなかったとしている。しかしヌードマウスに移植されたヒト癌の間質はマウス由来のものであることから、長期間にわたって継代を重ねると形態学的変化を生ずる可能性もあることを十分考慮する必要がある。坪井<sup>21)</sup>はヌードマウス可移植ヒト膀胱癌株の移植・継代前後の組織像を検討した。原腫瘍は squamous pattern を示す nest と adenomatous structure を示す nest が一部にみられるが、基本的には未分化な TCC の性格を有しており、継代を重ねても原腫瘍の基本構造を受けついでいたが、間質が減少し、medullary な性格が目立ち、pseudoadenomatous, squamous pattern が増加してきたと述べている。永井ら<sup>4)</sup>も胃癌、乳癌などの間質の線維化傾向の強いいわゆる硬性癌が髄様癌に変る傾向がみられたと報告している。著者が長期間にわたって継代維持している腎細胞癌株の組織像の検討では、AM-RC-I においては原腫瘍は trabecular もしくは小管状腺腔を形成し、mitosis も多く tubular adenocarcinoma の像を呈し、間質は豊富な結合織より成っていたが、継代に伴って幾分未分化傾向を示し、間質がやや減少し medullary な性格を帯びていた。AM-RC-6 の場合、原腫瘍は clear cell を主体とし、granular cell を混在せる mixed subtype の腫瘍である。全体として alveolar pattern を示して増殖し、間質は乏しく、大部分毛細血管より成り、核の異型性は高度で mitosis も多数認められた。本腫瘍は継代により granular cell の占める部分がやや多くなっているが、基本的組織構築はよく維持されていた。AM-RC-II の原腫瘍は clear cell を主体とし、間質は毛細血管が豊富で alveolar pattern を呈しているが、他に spindle cell を混じた部分は solid pattern を示す。個々の腫瘍細胞の核は異型性が強い。本腫瘍は継代に伴って spindle cell の部分がほとんど認められなくなり、clear cell が優位を占めている。また間質は原腫瘍に比して減少傾向を示し、alveolar pattern もやや減少し、medullary な性格が目立った。継代に伴って spindle cell が消失した原因として、この細胞はヌードマウスで継代維持されにくい性質を有しているのか、あるいは継

代移植時に spindle cell の数が充分含まれていなかったために生着しなかったのか明らかではないが、岡田ら<sup>9)</sup>は混合組織型の非セミノーム睾丸腫瘍の継代移植中、合体様巨細胞が消失したことより、ある種の細胞集団の脱落や優位、即ち移植によるクローン選択が起こりうると述べ、このような現象が移植に際しての技術的操作に基づくのではなく、移植され易い細胞集団への淘汰が考えられると述べている。また下里<sup>3)</sup>も腫瘍のなかには継代中に退形成を示すものがあり、2つ以上の成分を有する腫瘍では、上皮成分が優位を占める場合とその逆がみられると報告している。このような事実を考慮すると、ヌードマウスに移植されたヒト癌は継代を重ねても基本的な組織形態が大きく変わることはないにしても、腫瘍によってはある程度変化しうることを念頭におかねばならない。一方ヌードマウスを用いた抗癌剤感受性試験を臨床に応用しようとの試みが近年多くの研究者によりなされているが、実験結果を臨床に正しく反映させるためには、継代を繰り返しても、組織像および抗癌剤感受性が原腫瘍と変わらないことが大前提となる。したがって腫瘍の移植に際しては、移植片に隣接した腫瘍組織はもちろんのこと、他の腫瘍部分の組織像をも継代前後でたえず比較検討する必要がある。ヌードマウスに移植されたヒト癌の特性を考えると、この実験モデルは今後、癌の生物学的性状の解明、診断および治療などに重要な役割を果たすであろうと思われる。

## 結 語

1981年6月より1984年5月までの3年間に6種40例のヒト尿路生殖器悪性腫瘍をヌードマウスに移植し、以下の結果を得た。

1) 移植を試みた40例の腫瘍中7例(17.5%)に生着が認められ、そのうち3例(全体の7.5%)に継代が可能であった。

2) 生着率を腫瘍別にみると、腎腫瘍14例(全例腎細胞癌)中4例(28.6%)、膀胱腫瘍13例中3例(23.1%)で、腎盂腫瘍、尿管腫瘍、前立腺腫瘍、睾丸腫瘍はいずれも0%であった。

3) 腫瘍組織の採取部位を原発巣と転移巣に分けて生着率を検討すると、前者は33例中6例(18.2%)、後者は7例中1例(14.3%)で両者に明らかな差はみられなかった。

4) 生着を認めた7腫瘍のうち、1年以上の長期間にわたって継代可能なものは腎細胞癌の3株(AM-RC-I, AM-RC-6, AM-RC-II)であった。初代移植に成功した膀胱腫瘍3例は、いずれも2代目以降に腫

瘍が消失したために、継代は不可能であった。

5) 初代移植成功例 7 例において、腫瘍移植より生着までの期間をみると、最短は腎細胞癌の 12 日、最長は膀胱腫瘍の 36 日、平均 24.4 日であった。

6) 生着率と移植に要した時間の関係についてみると、3 時間以内 29.4%、3～5 時間 18.2% の生着率で、組織採取後、可及的短時間内での移植が望まれた。

7) 抗 asialo G M1 抗体投与の生着率におよぼす影響を検討したが、現在までのところ非投与群との差は認められなかった。

8) 初代移植に成功した 7 腫瘍を病理組織学的に検討した結果、腎細胞癌 4 例はいずれも組織学的異型度が高度でかつ転移を有する進行癌のため、術後早期に死亡した。また膀胱腫瘍でも生着例 3 例中 2 例は低分化型腫瘍であることから、腫瘍の分化度、増殖能と可移植性との関連性が示唆された。

9) 長期継代可能な腎細胞癌 3 株 (AM-RC-1, AM-RC-6, AM-RC-11) の増殖態度をみると、各株の間で増殖速度が異なるが、各々継代 7 代目、9 代目、10 代目以降になると、ほぼ安定した増殖を示した。

10) ヌードマウス可移植腎細胞癌 3 株の原腫瘍と移植継代腫瘍の組織像を比較検討した。AM-RC-1, AM-RC-11 では継代により間質の減少傾向がみられ、medullary な性格が強くなっているが、3 株とも原腫瘍の基本的な組織学的特徴をよく維持していた。

稿を終るにあたり、終始深甚なる御指導、御校閲を賜りました名古屋大学医学部泌尿器科三矢英輔教授に深謝致します。また本研究に際し常に適切な御指導、御助言を頂きました愛知医科大学泌尿器科瀬川昭夫教授、病理学的検索に際し、御指導を賜った愛知医科大学第一病理学花之内基夫助教授（現在中部労災病院病理部長）に厚く感謝致します。更に御協力を下さった教室員諸兄に御礼申し上げます。なお本論文の要旨の一部は、第 32 回泌尿器科中部連合総会にて発表した。

## 文 献

- 1) Rygaard J and Povlsen CO : Heterotransplantation of a human malignant tumor to nude mice. *Acta Pathol Microbiol Scand* 77: 758~760, 1969
- 2) 玉置憲一・垣生園子：ヌードマウスの Natural killer (NK) 細胞と移植腫瘍に対する効果。人癌とヌードマウス，下里幸雄，玉置憲一，第 1 版，pp. 20~27，医歯薬出版，東京，1982
- 3) 下里幸雄：ヌードマウス，その癌研究への応用。蛋白 核酸 酵素 23 (臨時増刊 6 号)：719~732 1978
- 4) 永井完治・下里幸雄・亀谷 徹・小出 勉・広橋 説雄・林 博厚・野村達次 人の腫瘍のヌードマウスへの移植—移植成績と移植腫瘍の性状について—。癌の臨床 22：745~754，1976
- 5) 玉置憲一・上山義人：ヌードマウス移植ヒト腫瘍の発育形式と宿主反応。臨の臨床 22：694~698，1976
- 6) 由井康雄：ヒト泌尿生殖器系悪性腫瘍の異種移植に関する研究 (第 1 報)，ヌードマウスへの移植実験およびヌードマウス可移植性ヒト前立腺癌に対する治療実験。日泌尿会誌 70：28~45，1979
- 7) 勝岡洋治：Nude mouse 移植と培養細胞系を応用したヒト腎細胞癌の機能と形態に関する研究。日泌尿会誌 69：285~303，1978
- 8) 大西哲朗・増田富士男 ヌードマウス可移植性ヒト腎細胞癌による治療実験の研究。第 1 報 ヌードマウス可移植性ヒト腎細胞癌株の特性。日泌尿会誌 75：1903~1910，1984
- 9) 岡田謙一郎・吉田 修：尿路性器悪性腫瘍のヌードマウス異種移植の研究—移植成績と移植組織の性状。泌尿紀要 30：1749~1767，1984
- 10) 塚本泰司・熊本悦朗：ヒト尿路性器癌の可継代腫瘍を用いた抗剤の効果検討。ヒト尿路性器癌の Nude Mouse 異種移植に関する検討 (第 2 報)。日泌尿会誌 74：1297~1312，1983
- 11) Okada K, Schroeder FH, Jellinghaus W, Wullstein HK and Heinemeyer HM : Human prostatic adenoma and carcinoma. Transplantation of cultured cells and primary tissue fragments in nude mice. *Invest Urol* 13: 395~403, 1976
- 12) 須田 誠・北村道彦・西平哲郎・渡辺登志男・葛西森夫：ヒト食道癌のヌードマウスへの移植。癌の臨床 27：109~110，1981
- 13) 日本泌尿器科学会，日本病理学会，日本医学放射線学会編：泌尿器科・病理・放射線科 腎癌取扱い規約，第 1 版，金原出版，東京，1983
- 14) 河村栄二・宮川 健・黒河輝久・豊田 元・鈴木達夫・川久保安朗・高山光太郎・三浦八重：ヌードマウスへ移植されたヒト消化器癌の可移植性向上と化学療法の検討。日癌治会誌 13：689~699，1978
- 15) Kasai M, Iwamori M, Nagai Y, Okumura

- K and Tada T: A glycolipid on the surface of mouse natural killer cells. *Eur J Immunol* **10**: 175~180, 1980
- 16) 奥村 康・落合幸子: 抗脂質抗体を用いた免疫細胞分化とその亜群の解析. *代謝* **17**: 1923~1931, 1980
- 17) 鈴木 潔・須藤カツ子・小林理造: ノードマウスの繁殖・生産ならびにヒト胃癌の異種移植と継代胃癌に対する制癌剤の影響. *医学のあゆみ* **96**: 288~295, 1976
- 18) Povlsen CO Growth of human tumors in nude mice and chemotherapy studies in this model. *Proceedings of the symposium on the use of athymic (nude) mice in cancer research*, pp. 187~194, Gustav Fischer, New York, Stuttgart, 1978
- 19) Povlsen CO, Visfeld J, Rygaard J and Jensen G: Growth patterns and chromosome constitutions of human malignant tumors after long-term serial transplantation in nude mice. *Acta Pathol Microbiol Scand* **83**: 709~716, 1975
- 20) Kameya T, Shimosato Y, Hayashi H and Tsumuraya T: Growth and differentiation of hormone-producing human tumors in nude mice. *Proceedings of the second international workshop on nude mice*, pp. 405~416, University of Tokyo Press, Tokyo, 1977
- 21) 坪井成美: ヒト泌尿生殖器系腫瘍の異種移植に関する研究 (第V報), ノードマウス移植ヒト膀胱腫瘍株 (NM-B-1) に対する化学療法 *日泌尿会誌* **73**: 883~897, 1982

(1986年5月16日迅速掲載受付)